LES MYCETES
les champignons supérieurs - TP
Fermentation

Réaliser une fermentation

Le présent TP portera sur la levure de bière ou de boulanger. On peut se procurer de la levure fraîche chez tous les boulangers sous forme de petits blocs, où les cellules sont agglomérées et en vie ralentie.

Les premiers à faire de la 'biotechnologie' furent les civilisations mésopotamiennes, il y a 8'000 ans env., qui cultivaient des céréales et savaient déjà utiliser les levures pour fabriquer des boissons alcoolisées.
Dès le 19ème siècle, différents scientifiques s'affrontèrent pour expliquer le phénomène de la fermentation : le Suédois Jakob Berzélius (1779-1848) et les Allemands Justus von Liebig (1803-1873) et Friedrich Woehler (1800-1882), d'un côté, et de l'autre, notamment l'Allemand Theodor Schwann (1810-1882), père de la théorie cellulaire.
Pour les premiers, adeptes de la « théorie chimique », la fermentation était un processus chimique au cours duquel le sucre est décomposé en alcool et gaz carbonique. Ils affirmaient que les levures se décomposent au cours de ce processus. Les seconds soutenaient que c'étaient l'activité des levures elles-mêmes qui transformait le sucre.

Finalement, ce fut Louis Pasteur (1822-1895) qui trouva la solution à la question. Il démontra entre autres que certains microorganismes sont anaérobies (ils possèdent un métabolisme anaérobie).

La levure est l'un des êtres vivants les mieux connus et, à côté de son utilisation millénaire dans la fabrication de différents aliments, elle constitue l'un des outils les plus utilisés dans les biotechnologies, notamment en génie génétique. Les levures présentent en outre l'avantage par rapport au microorganisme "vedette" du génie génétique, le colibacille *Escherichia coli*, d'être des cellules beaucoup plus proches des nôtres. A ce titre, leur fonctionnement est également plus proche de celui des cellules animales que ne l'est celui du colibacille.

Etapes du TP :

Pour le ……., :

- ✓ **Vous lirez très attentivement le présent protocole.**
  Il vous faut comprendre toutes les explications, l'introduction et le protocole lui-même, ainsi que le montage de l'expérience, de façon à être capable de le réaliser seul.
- ✓ Par groupes de deux élèves, **vous répondrez aux questions posées (voir p.6-7 du TP), *avant* la réalisation du TP en classe.**
- ✓ **Prenez ces réponses avec vous le jour du TP (en version papier, déjà rédigées au net et à l'ordinateur !)** : je regarderai que vous avez répondu aux questions.

Pour le ……., :

- ✓ **Vous répondrez aux questions de la seconde partie**, touchant aux observations et aux résultats du TP.

Attention ! ! !

- ☞ Vous rédigerez un document par **groupe de deux élèves.**
- ☞ Votre travail sera **rédigé à l'ordinateur, de façon claire et succincte.**
- ☞ Ce travail est **noté.**
- ☞ Soyez vigilants à **ne pas recopier vos sources !**
  Vous devez composer vos propres phrases, avec vos propres mots.
  Il ne suffit donc pas de changer / omettre / ajouter quelques mots !
  En cas de recopie d'une source, ou d'un autre groupe, la question complète comptera comme laissée en blanc (0 points), et ce pour tous les groupes concernés.
- ☞ Veillez à rendre votre travail **le jour indiqué ci-dessus !!!**
  Si vous êtes absents / malades / « oublieux » / dans l'incapacité de **rendre le rapport à cette date, et *pendant le cours*, vous devez, au choix :**
  - **déposer** le rapport dans mon casier ***au plus tard à l'heure du cours ;***
  - **envoyer** votre rapport en **format PDF**, ***au plus tard à l'heure du cours***, à l'adresse : tania.buhler-garrido@edu.ge.ch
- ☞ **Si vous ne respectez pas la date *et* l'heure de reddition**, la note du rapport sera d'office abaissée d'une bonne.
- ☞ De même**, si vous n'avez pas répondu aux questions pour le jour du TP, ou si vous êtes dans l'incapacité de réaliser le montage** sans problèmes de compréhension, la note du rapport sera abaissée de la même manière.

TP - Réaliser une fermentation

Matériel :

- Levure de boulanger
- Sucre en poudre
- Bouteille (p.ex. 250 ml ou 33 cl)
- Ethylomètre (test d'alcoolémie)
- 2 Ballons à gonfler
- Comprimé de vitamines
- Mortier
- 2 Petits élastiques
- Balance
- Bécher de 200 ml
- Cuillère
- Scotch
- Coton
- Pince
- Alcool à brûler
- Allumettes
- Petit bécher
- Epingle (à nourrice) fine
- Ciseaux

Marche à suivre :

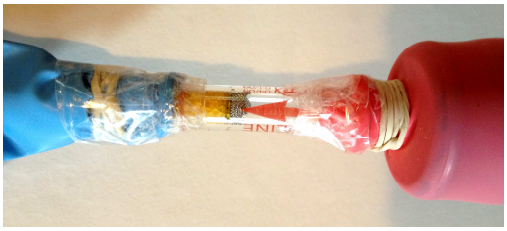
I) Première partie :

Dans le bécher de 200 ml, mesurer 100 ml d'eau tiède.
Peser 5 grammes de levure fraîche, et l'ajouter à l'eau. Mélanger soigneusement la levure, de façon à ce qu'il ne reste pas de grumeaux.
Ajouter 5 grammes de sucre en poudre. Mélanger jusqu'à dissolution.
Ajouter une pincée de la poudre du comprimé de vitamines, que l'on a au préalable écrasé dans le mortier. Bien que ce ne soit pas strictement indispensable, cela améliorera l'activité des levures.
Bien mélanger le tout et verser dans la bouteille.

Couper l'embout de gonflage d'un ballon, sur un minimum de 4 cm, pour réaliser un adaptateur entre le goulot de la bouteille et la cartouche du test d'alcoolémie.

Selon le mode d'emploi du test d'alcoolémie, ouvrir le tube, et jeter les petits cristaux qui se trouvent aux deux extrémités du tube du test.

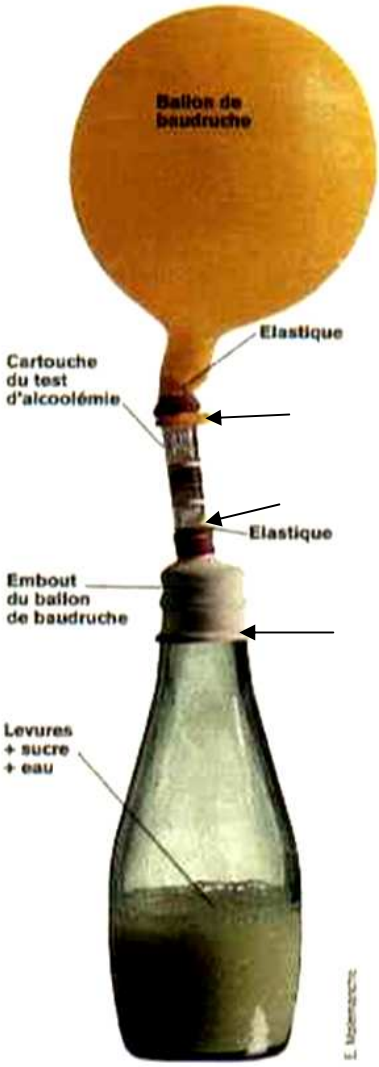
Avec une épingle (à nourrice), percer deux ou trois petits trous à travers le réactif de la cartouche pour faciliter le passage des gaz (dans le sens de la longueur du tube).
Ne soufflez pas dans le tube !
Enfiler l'embout de gonflage du ballon sur le tube du test (c'est le côté qui ira dans la bouteille) : c'est normalement le côté qui devrait se placer dans le ballon/sac de l'éthylomètre.



Le fixer fermement avec un des élastiques. Etanchéifier avec du scotch sur le tube.

A l'autre extrémité du tube, enfiler le
deuxième ballon,
et fixer fermement avec l'autre élastique.
Etanchéifier avec du scotch sur le tube.

Placer le raccord découpé du ballon sur le goulot
de la bouteille, et étanchéifier avec du scotch sur la bouteille.



Voilà à quoi ressemble maintenant votre montage
(photo à la page suivante).
Aux trois endroits indiqués par une flèche, vous aurez
étanchéifié avec du scotch.

Agitez doucement vos levures, en tenant
délicatement le montage.

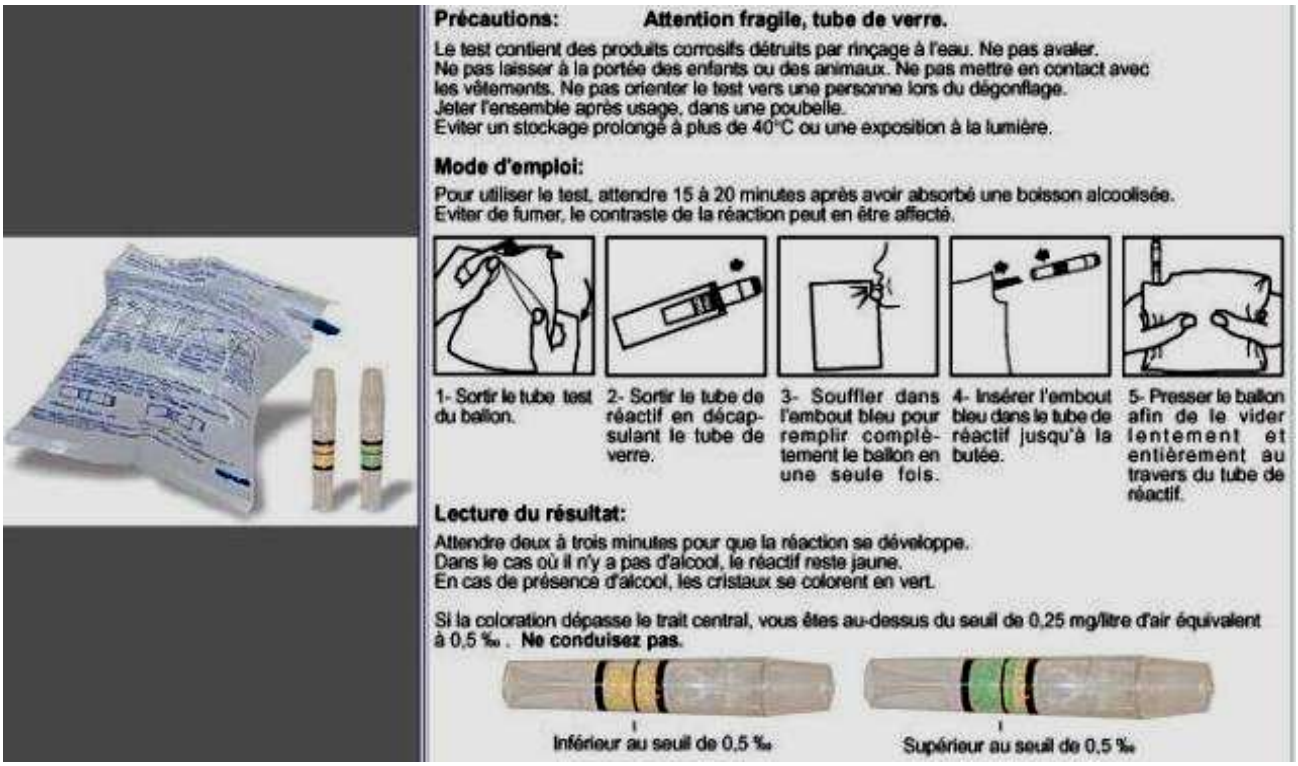
Attendez 60 minutes et observer attentivement.

Pendant ce temps d'attente, de temps à autres,
agitez doucement vos levures, en tenant
délicatement le montage.

II) Seconde partie :

Une fois les 60 minutes passées, imbiber un *petit* morceau de coton avec de l'alcool à brûler : ne pas le détremper totalement avec l'alcool, mouiller simplement !
Le mettre de côté.
Torsader le ballon supérieur au niveau du tube, et le maintenir fermement fermé, de façon à lui conserver son gaz.
Couper le ballon au niveau du tube, en le tenant bien fermé.
Laisser tout doucement le gaz s'échapper au fond du petit bécher vide.
Saisir le morceau de coton imbibé avec la pince.
Enflammer immédiatement le coton avec l'allumette *(attention aux doigts et aux cheveux et habits !!!!!!!!!!)*. Le déposer tout de suite dans le bécher.
Observer attentivement.

Mode d'emploi d'un éthylotest à ballon :



Comment fonctionne un éthylotest ?

Comme conducteur, on peut être amené à souffler dans le ballon : lors d'un contrôle routier par les forces de l'ordre. Chimique ou bien électronique, l'éthylotest mesure la quantité d'alcool présent dans notre organisme.

Le premier instrument de mesure du taux d'alcool dans notre organisme date de 1958. Nommé le Breathlyzer, cet appareil a été mis au point par le docteur Robert F. Borkenstein aux Etats-Unis. Couramment appelé l'alcootest (le nom Alcotest

correspond à une marque), il quantifie en fait la quantité d'alcool présent dans l'air expiré.

L'air expiré contient de l'alcool qui va réagir avec le dichromate de potassium, du tube.

L'alcool absorbé va directement dans l'estomac du consommateur puis est ensuite acheminé au petit intestin, puis au foie. L'essentiel de sa dégradation s'opère à ce niveau-là, soit les 90%. Une demi-heure environ après la consommation, l'alcool passe déjà dans le sang et sa vitesse de métabolisation est de 0,1 g par kg de masse corporelle et par heure. Donc rien ne sert après coup de manger ou de boire du café, pour masquer l'alcool ingéré, seul le temps permet une totale dissipation des effets alcooliques.

Les 10% restants d'alcool non métabolisés partent directement au coeur par le réseau veineux, puis aux poumons ; où ce sang sera oxygéné. En respirant, l'oxygène de l'air passe dans le sang, et le dioxyde de carbone ainsi que l'alcool font le chemin inverse. Voilà pourquoi l'alcool est détectable dans notre haleine.

Le contrôle de l'alcool s'effectue généralement via un éthylotest chimique (au poste de police, on utilise l'électronique car beaucoup plus précis). A usage unique, il se présente sous la forme d'un sac et d'un embout par lequel on souffle. Celui-ci contient du dichromate de potassium, de couleur jaune orangée. L'éthanol qui va être expiré réagit avec ce composé par un processus d'oxydoréduction. En fait, les ions dichromates sont oxydés par l'éthanol. Cela entraîne un changement de couleur, l'embout devient bleu vert-vert. Bien évidemment, il faut une certaine quantité d'éthanol pour que la réaction s'opère.

Petit bémol : ces appareils ne sont pas fiables à 100%. Parfois, la couleur vire alors que l'on n'a pas consommé d'alcool. Il faut savoir que naturellement nous avons de l'éthanol présent dans notre haleine. La responsable en est la fermentation. Un examen par un éthylotest électronique ôtera tout soupçon.

Questionnaire :

I) 13 Questions préparatrices du TP

(à répondre avant le TP,
et à me présenter le jour du TP
déjà rédigées au net, à l'ordinateur)

1) Donner le nom scientifique complet, en latin, de la levure de boulanger.

   Saccaromyces cerevisiae.

2) A quoi sont dus les mécanismes de fermentation ?

   A des microorganismes.

3) Pour définir le mot « anaérobie », dites ce qu'est un organisme anaérobie.

   C'est un organisme qui peut vivre en l'absence d'oxygène.

4) A quel règne appartient la levure ?

   Mycètes / Champignons.

5) Quelles utilisations non-médicales l'Homme a-t-il fait de la levure ? Citez 5 exemples distincts, précis.

   Fabrication de bière, vin, alcool, pain, pâtes levées, antibiotiques, vitamine B, thiamine, hormones stéroïdes.

6) Existe-t-il des levures pathogènes pour l'Homme ? Lesquelles : donnez leur nom de genre.

   Candida.

   Que provoquent-elles, de façon générale : donnez le nom du type d'affections.

   Candidoses.

7) On utilise volontiers la levure en génie génétique, car elle a une caractéristique majeure qui fait qu'elle est plus proche de nos cellules humaines qu'un autre « organisme vedette » du génie génétique, le bacille (une bactérie) Escherichia coli. Quelle est cette caractéristique (citez la plus importante dans ce contexte !) ?

   (Elle est eucaryote :)elle a donc un noyau.

8) Donnez l'équation de la fermentation (pas en formule chimique équilibrée). Pour information : L'ATP est une molécule riche en énergie, utilisée par les cellules pour les réactions chimiques du métabolisme.

   Glucose -> CO_2 + éthanol + ATP

9) Dans quel genre de milieu se produit toujours la fermentation ?

   Dans un milieu anaérobie.

10) Est-ce que la levure est capable de se multiplier en présence d'O_2 ?

    Oui.

    Quel métabolisme va-t-elle utiliser alors ?

    La respiration cellulaire.

11) Donner l'équation (pas en formule chimique équilibrée) de ce type de métabolisme, dont il est question au point 10.

Glucose + O_2 -> CO_2 + eau + ATP

12) Est-ce que cette réaction du point 10 a un rendement énergétique plus ou moins grand que la fermentation ?

Un meilleur rendement.

13) Pour qu'il fonctionne de façon satisfaisante, un éthylomètre est également composé d'un « catalyseur ».
Qu'est-ce qu'un catalyseur ?

C'est un produit qui n'est pas consommé et est restitué en fin de réaction chimique.

Quelle est son 'action' sur une réaction chimique ?

Il accélère la vitesse de la réaction.

II) Questions portant sur le TP :

1) Questions sur la première partie du TP :

a) A la fin de la première partie du TP, qu'avez-vous observé ?

1 : le réactif de la cartouche s'est coloré (un peu) en vert (sur une très fine bande).
2 : le ballon s'est gonflé peu à peu.

b) Qu'est-ce que cela indique ?

1 : cela indique la présence d'alcool dans les gaz émis par les levures.
2 : du gaz est fabriqué et relâché par les levures.

2) Questions sur la seconde partie du TP :

a) A la fin de la seconde partie du TP, qu'avez-vous observé ?

Le coton enflammé s'est éteint très rapidement. / le coton a brûlé longuement.

b) Pourquoi cela s'est-il produit ? Expliquez de façon complète.

Car il y avait du CO_2 dans le bécher (on l'y a mis en y vidant le ballon gonflé).
Or le CO_2 ne permet pas la combustion (qui nécessite de l'O_2).

Et comme le CO_2 est plus dense que l'air (plus lourd), il empêche l'O_2 d'arriver au coton. Il étouffe donc le feu.

SI et seulement si vous avez observé que le coton a continué à brûler longuement, alors répondez aux questions ci-dessous, *à la place de la question b* :

c) Qu'auriez-vous dû observer, si l'expérience avait donné le résultat escompté ?

Le coton enflammé aurait dû éteindre très rapidement.

d) Pourquoi cela aurait-il dû se produire ?

Car il y avait du CO_2 dans le bécher (on l'y a mis en y vidant le ballon gonflé).
Or le CO_2 ne permet pas la combustion (qui nécessite de l'O_2).
Et comme le CO_2 est plus dense que l'air (plus lourd), il empêche l'O_2 d'arriver au coton. Il étouffe donc le feu.

e) Faites *une* hypothèse plausible (!) expliquant pourquoi cela ne s'est pas produit.

- Il n'y a pas eu assez de CO_2 fabriqué par les levures.
- Le CO_2 a été perdu pendant le transfert, et donc il n'y a pas eu assez de CO_2.
- Le morceau de coton était trop volumineux, ainsi, le 'feu' était trop grand pour la quantité de CO_2 à disposition.
- Le coton a été imbibé de trop d'alcool à brûler, ainsi, le 'feu' était trop grand pour la quantité de CO_2 à disposition.